

Aus der Kinderklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. A. Windorfer

Normalwerte für die aktivierte Kreatin- phosphokinase im Serum bei Kindern

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Monika Adriani Djayaputra
aus
Semarang/Indonesien

D 29

1972

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. Dr. H. Pauly

Referent: Priv. Doz. Dr. F.C. Sitzmann

Korreferent: Prof. Dr. A. Windorfer

Datum der mündlichen Prüfung: 4.8.1972

Untersuchung der „aktivierten“ Creatinphosphokinase im Serum von Kindern

F. C. Sitzmann und M. Djayaputra^o)

Univ.-Kinderklinik Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. A. Windorfer)

Sonderdruck aus „Klinische Pädiatrie“, Band 184, Heft 1, 1972

FERDINAND ENKE VERLAG STUTTGART

Klin. Pädiat. 184 (1972) 59—63

Zusammenfassung: Die CPK-Aktivität im Serum kann auch mit der sog. Rückwärtsreaktion gemessen werden. Durch Zusatz von SH-Gruppen wird das Enzym reaktiviert, so daß das zu untersuchende Serum bis zu 3 Tagen aufbewahrt werden kann. Die Methode ist sehr empfindlich. Die Serummenge, bei Verwendung des Monotestes, beträgt 20 μ l, weswegen dieser Test besonders für die Pädiatrie zu empfehlen ist. Bei Neugeborenen und jungen Säuglingen im ersten Trimenon findet man höhere Werte (40—80 mU/ml), als bei älteren Kindern und Erwachsenen (— 40 mU/ml).

Examinations about “Activated” Creatinphosphokinase in the Serum

Summary: Creatine kinase in serum was determined by a coupled optical test (backward reaction). To activate the enzyme glutathion was added. 10-times higher values were measured, also in serum in which CPK was not determined within 12—24 hours. Increased activity was found in newborn infants. There was no correlation between the enzym-levels in the newborn and the duration of an uncomplicated labor. In premature infants serum CPK activity was lower than in fullterm infants. After the third month of life CPK values were like these of adults.

Auf die Bedeutung der Creatinphosphokinase (CPK; ATP: Creatinphosphotransferase, E. C. 2. 7. 3. 2.) in der Diagnostik von Muskel- und Herzerkrankungen wurde während der vergangenen Jahre wiederholt in zahlreichen Arbeiten eingegangen. Die höchste spezifische Aktivität weist die quergestreifte Muskulatur auf sowie der Herzmuskel. Beim Herzinfarkt und bei der akuten Myocarditis steigt daher wenige Stunden nach dem Ereignis die Aktivität der CPK an [26]. Andere, ähnliche klinische Krankheitsbilder lassen diesen Anstieg vermissen. Die höchsten Werte sind bei den verschiedenen Formen der progressiven Mus-

keldystrophie (vor allem beim Typ Duchenne) zu messen. Die Untersuchung der CPK im Serum hat deshalb auch in der Kinderheilkunde eine große Bedeutung erlangt, zumal jetzt ein empfindlicherer CPK-Test zur Verfügung steht. Die diagnostische Bedeutung der CPK war bislang deswegen eingeschränkt, weil es das instabilste aller diagnostisch wichtigen Serumenzyme darstellt. Colombo [5], Feissli [7] sowie Rothhauwe [18—20] haben mit ihren ausführlichen Untersuchungen über die Haltbarkeit dieses Enzyms den raschen Aktivitätsabfall aufgezeigt. Die Verluste betragen 30—70 % innerhalb von 24 Stunden, auch wenn das Serum bei + 4°C aufbewahrt worden war. Stein [24] konnte aber bereits 1962, Rothhauwe [19, 20], Forster [8] und Wiesmann [29] später zeigen, daß das Enzym durch Zusatz von SH-Verbindungen reaktiviert wird. Somit besteht die Möglichkeit, Serum zur CPK-Bestimmung länger (über 24 Stunden) zu lagern oder auch mit der Post zu verschicken, aber trotzdem reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Zur Reaktivierung bedient man sich heute meist des Glutathions oder des Cysteins [6, 9, 12, 14, 16, 28].

Während ohne Reaktivierung Normalwerte um 1 mU/ml Serum oder wenig höher erhalten werden (je nach Substratkonzentration, pH-Wert im Ansatz, Inkubationstemperatur), findet man bei Zusatz von SH-Verbindungen höhere Normalwerte, die zwischen 4—40 mU/ml liegen. Diese Werte gelten für gesunde Erwachsene [25].

Normalwerte der „aktivierten CPK“ für Kinder verschiedener Altersgruppen liegen zum jetzigen Zeitpunkt (Oktober 1971) nicht vor. Wir nehmen daher seit 1½ Jahren umfangreiche CPK-Bestimmungen im Serum von

^o) Die Arbeit enthält wesentliche Ergebnisse der Dissertation von Frl. cand. med. M. Djayaputra (D 29). Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Tabelle 1

Gruppe	Alter	n	Modalwert	akt. CPK (mU/ml ± mittl. quadr. Abweichung (S))	Spannweite	Standard- Abweichung (Sm)	M ± 2 Sm (K-Wert: 2,00—2,04)
I	A: Frühgeborene						
	1.—10. Tag	39	75,4	71,42 ± 35,48	114	5,69	60,04—82,80
II	11.—35. Tag	49	50,5	48,56 ± 23,58	91	3,37	41,82—55,30
III	B: Neugeborene						
	1.—22. Tag	49	99,00	97,63 ± 41,43	101	5,92	86,79—108,47
	C: Säuglinge						
IV	3. Wo.—3 Mon.	56	49,00	50,29 ± 20,19	89	2,70	44,90—55,70
V	3. Wo.—3. Mon.	47	32,00	35,36 ± 15,36	66	2,24	30,88—39,84
VI	9. Mon.—12. Mon.	47	30,00	31,57 ± 17,12	74	2,60	26,57—36,57
	D: Kleinkinder						
VII	1.—3. Jahr	89	30,12	30,63 ± 15,82	83	1,68	27,27—34,00
VIII	3.—6. Jahr	82	30,31	30,76 ± 14,08	66	1,55	27,66—33,86
	E: Schulkinder						
IX	6.—9. Jahr	64	31,00	31,20 ± 13,58	58	1,70	27,80—34,60
X	9.—15. Jahr	76	30,4	29,53 ± 14,61	58	1,68	26,17—82,90

Neu- und Frühgeborenen, Säuglingen und Kleinkindern vor und versuchen nun, nach statistischer Auswertung dieser Befunde, Normalwerte für die einzelnen Altersklassen zu erstellen.

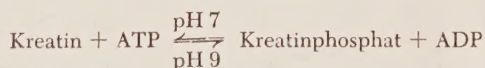
Krankengut und Methodik

Für die Blutentnahmen wurden nur gesunde Kinder ausgewählt, die entweder zu einer Durchuntersuchung stationär lagen oder in die Poliklinik kamen. Jedes der insgesamt 598 Kinder wurde nur einmal erfaßt; Verlaufskontrollen liegen nur bei Kindern mit primären Muskelerkrankungen vor.

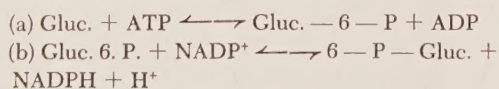
Methodisch hielten wir uns an die Angaben, wie sie in der Anleitung der Testkombination der Fa. Boehringer vorliegen; für die hier angewandte Mikrolitermethode mit dem Monotest sind nur 20 µl Serum erforderlich. Bei Serienuntersuchungen eignete sich dieser Monotest besonders gut. — Die fertige Gebrauchslösung für den Monotest ist nach Ansetzen noch etwa 4—5 Stunden zu verwenden (aufbewahrt bei Zimmertemperatur). — Meßtemperatur: 25° C (temp. Küvettenhalter), Meßwellenlänge: 366 nm (d = 1 cm), Gerät: Eppendorf-Photometer (ohne Extinktionschreiber), SH-Verbindung: Glutathion (9 mM

Endkonzentration im Testansatz von 250 µl bei Verwendung des Monotestes). Die Extinktionsänderung / Min. (ΔE) wurden über 5 Minuten beobachtet.

Der Reaktionsablauf folgt der Gleichung:



Das entstehende ATP wird mit einer Hilfsreaktion (a) und einer Indikatorreaktion (b) nach folgendem Schema gemessen:



$\Delta E/\text{Min.}$ (366 nm) mußte mit dem Faktor 7879 multipliziert werden, um mU/ml zu erhalten. (1. I. U. = $\mu\text{Mol} \times \text{min}^{-1} \times \text{L}^{-1}$)

Der Faktor 7879 berechnet sich nach der Formel:

$$\Delta E \times \frac{1000 \times V_1}{\varepsilon \times d \times V_2}$$

(V_1 = Endvolumen; V_2 = eingesetztes Serumvolumen, d = Schichtdicke der Küvette, ε = Extinktionskoeff. für NADPH bei 366 nm)

Ergebnisse

Die für die verschiedenen Altersgruppen gefundenen Enzymaktivitäten der akt. CPK sind in der folgenden Tab. 1 angegeben.

Tabelle 2

Serum-Nr.	Aktivität am 1. Tag	Aktivität am 6. Tag	s_m	Variations- koeffizient (%)
I	66 (mU/ml)	58	4,66	15,80
II	25	30	1,69	13,62
III	33	25	1,69	13,62
IV	33	25	1,79	15,10
V	33	33	—	—
VI	5269	4611	377,04	16,80 (Muskeldystr.)

Als Lagegrößen sind der Mittelwert und der Modalwert angegeben, wobei auch sog. „Ausreißer“ mit berücksichtigt werden. Dies kommt deutlich zum Ausdruck bei den Streuungskenngrößen: Spannweite und mittlere quadrat. Abweichung. Die Histogramme sprechen für eine Normalverteilung.

Stat. Vergleich einzelner Gruppen mit Hilfe des t-Tests ergaben:

Vergleich Gruppe I/III: $t = 2,85$

II/IV: $t = 0,69$

I/II: $t = 2,12$

III/IV: $t = 3,27$

IV/V: $t = 1,68$

V/VI: $t = 0,69$

Kontrolle der Enzymstabilität und der Präzision der Methode:

a) 6 Seren mit unterschiedlicher Aktivität der CPK wurden von der gleichen Person an 6 aufeinanderfolgenden Tagen zur gleichen Tageszeit gemessen (zwischendurch Aufbewahrung bei $+4^\circ\text{C}$). Die Ergebnisse sind in der Tabelle 2 angegeben:

Im verdünnten Serum fanden wir wiederholt um 30—35 % höhere CPK-Werte als im gleichen unverdünnten Serum.

b) Mit einem Serum mehrerer gesunder Kinder wurden jeweils 10 Bestimmungen vorgenommen (Präzision der Serie). Alle 5 Seren hatten einen akt-CPK-Wert von 58—66 mU/ml. Der Variationskoeffizient aller Bestimmungsreihen lag zwischen 4,80—5,02 %.

Wurde die Inkubationstemperatur von 25°C auf 37°C erhöht, so ergab sich eine Aktivitätssteigerung zwischen 10—15 %. Bei Kindern mit Muskeldystrophien, vor allem beim Typ Duchenne, fanden sich je nach dem Schweregrad und der Verlaufsdauer der Erkrankung

Werte zwischen 1020—18 530,0 mU/ml Serum.

Besprechung

Die mit diesem Test zur aktiven CPK-Bestimmung gewonnenen Werte weisen eine deutliche Altersabhängigkeit auf, die ganz besonders in den ersten Lebensmonaten auffällt. Mit zunehmendem Alter der Kinder finden sich schließlich (etwa nach dem ersten Lebenshalbjahr) die für Erwachsene gültigen Normalwerte (bis 45 mU/ml). Einen Geschlechtsunterschied, wie ihn Szasz [25] bei Erwachsenen feststellen konnte, beobachteten wir bei den von uns untersuchten Kindern allerdings nicht.

Über altersabhängige Aktivitätsunterschiede der CPK wurde bereits früher von uns berichtet [23]. Damals erfolgte die CPK-Bestimmung jedoch mit der sog. Vorwärtsreaktion, die niedrigere Aktivitäten ergibt. Die höchsten Werte waren am 1. und 2. Lebenstag zu messen; sie fielen dann schnell ab. Bei einem groben Vergleich beider Methoden, angewandt in den verschiedenen Altersgruppen, besonders eben während der ersten Lebensmonate, zeigt sich ein Unterschied etwa um den Faktor 10. Szasz und Mitarb. [25] haben die nicht aktivierte Vorwärtsreaktion und die aktivierte Rückwärtsreaktion verglichen und eine gute Korrelation ($r = 0,81$) festgestellt. Bei Werten über 3000 mU/ml waren von 38 getesteten Seren 35 auch mit dem früher üblichen Test pathologisch. Es ist aber nicht möglich, einen konstanten Umrechnungsfaktor für beide Methoden anzugeben. Die Vorteile dieser aktivierten CPK-Methode sehen wir darin, daß

man mit kleinen Serummengen arbeiten kann und andererseits die Verdünnung im Ansatz so hoch ist, daß geringe Hämolyse, wie sie bei Blutentnahmen an Kindern immer wieder auftritt, Lipämie oder bislang noch unbekannte Hemmfaktoren im Serum [3, 14] nicht mehr störend wirken. Der Endfaktor (siehe Berechnung) wird allerdings durch die Verdünnung höher, es sei denn man kann bei anderen Wellenlängen als 366 nm arbeiten.

Auffallend ist, daß die CPK-Aktivität bei Frühgeborenen signifikant niedriger liegt als bei reifen Neugeborenen. Dies hängt möglicherweise auch mit der größeren Muskelmasse Reifgeborener zusammen. Ob die höheren Enzymaktivitäten während der ersten Lebensstage nur durch den Geburtsstress bedingt sind oder ob hier noch andere Faktoren eine Rolle spielen, ist bislang nicht sicher geklärt. Eine erhöhte Zellpermeabilität bzw. eine vorübergehende Anoxie können zu diesen Faktoren gerechnet werden [2, 3, 11, 15, 21]. Rudolph und Mitarb. erhoben ähnliche Befunde [21]. Sie nehmen, ebenso wie Kontinen [10] an, daß aus der Uterusmuskulatur der Mutter CPK freigesetzt wird, vermehrt auf das Kind übergeht und dies zumindest ein zusätzlicher ätiologischer Faktor für die Erhöhung der CPK im Blut des Neugeborenen und vor allem im Nabelschnurblut [27] sein könnte.

Vergleichende Untersuchungen bei Mutter und Neugeborenem ergaben aber eine sehr große Schwankungsbreite, eine Korrelation in den CPK-Aktivitäten bestand sicher nicht. Auch zwischen Geburtsdauer und CPK-Höhe fehlte sie.

Um das 100—200fache höher liegt die CPK bei Kindern mit progressiver Muskeldystrophie (MD), verglichen mit den Werten, die mit Hilfe der nichtaktivierten Methode gewonnen wurden [1, 22]. Bei 8 Kindern mit dieser Erkrankung, die wir im Zeitraum unserer Untersuchungen erfaßten, lagen sämtliche Werte über 5000 mU/ml. Bei rascher Progredienz fielen besonders hohe Werte auf, ebenso bei früher klinischer Manifestation. Aber auch im fortgeschrittenen Stadium (3 Kindern

konnten nur noch mit Unterstützung gehen und eines mußte getragen werden), waren noch CPK-Aktivitäten zwischen 1020—2360 mU/ml zu messen. Diese Befunde wurden sämtlich bei Kindern mit dem Typ Duchenne erhoben.

Literatur

1. Aebi, U., R. Richterich, H. Stillhart, J. P. Colombo, E. Rossi: Progressive Muskeldystrophie. III. Serumenzyme bei der Muskeldystrophie im Kindesalter. *Helv. paediat. Acta* 16 (1961) 543
2. Ballario, R., D. Pavesio: Considerazioni sul significato della creatinfosfochinasi seria nel neonato. *Minerva pediat.* 21 (1969) 253
3. Cao, A., N. Tralbalza, S. de Virgiliis, M. Furbetta, G. Coppa: Serum creatin kinase activity and serum creatine kinase isoenzymes in newborn infants. *Biol. neonat.* 17 (1971) 126
4. Caraway, W. T.: Chemical and diagnostic Specificity of laboratory tests-effect of hemolysis, lipemia, anticoagulants, medications, contaminations and other variables. *Amer. J. clin. Path.* 37 (1962) 445
5. Colombo, J. P., R. Richterich, E. Rossi: Serum-creatine-phosphokinase: Bestimmung und diagnostische Bedeutung. *Klin. Wschr.* 40 (1962) 37
6. Conn, B. B., V. Anido: Creatine phosphokinase determinations by the fluorescent ninhydrine reaction. *Amer. J. clin. Path.* 46 (1966) 177
7. Feissli, S., G. Forster, G. Laudahn, E. und F. W. Schmidt: Normalwerte und Alterung von Hauptkettenenzymen im Serum. *Klin. Wschr.* 44 (1966) 390
8. Forster, G.: Zur Enzymdiagnostik von Herzinfarkt und Myopathien. *Schweiz. med. Wschr.* 97 (1967) 329
9. Kar, N. G., C. M. Pearson: Activation of creatine phosphokinase by sulfhydryl compounds in normal and muscular dystrophy sera. *Proc. Soc. exp. Biol.* 118 (1965) 662
10. Kantinen, A., T. Pyörälä: Serum enzyme activity in late pregnancy, at delivery and during puerperium. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 15 (1963) 429
11. Kelly, S., L. Desjardios: Creatine kinase in umbilical cord blood. *Amer. J. clin. Path.* 54 (1970) 818
12. Koedam, J. C.: Creatine phosphokinase: modified fluorimetric method. *Clin. chim. acta* 23 (1969) 63
13. Meltzer, H.: Factors affecting serum creatine phosphokinase levels in the general population: the role of race, activity and age. *Clin. chim. acta* 33 (1971) 165
14. Okinaka, S., H. Singita, H. Momoi, Y. Toyokura, T. Watanabe, F. Ebashi, S. Ebashi: Cysteine-stimulated serum creatine phosphokinase in health and disease. *J. Lab. clin. Med.* 64 (1964) 299
15. Roget, J., A. Beaudoin, J. Jobert, M. Bost: Creatine phosphokinase et anoxie neonate. *Pediatr. (Lyon)* 24 (1969) 163



16. Rosalki, S. B.: An improved procedure for serum creatine phosphokinase determination. *J. Lab. clin. Med.* 69 (1967) 696
17. Rotthauwe, H. W., S. Zurukzoglu-Sklavounou, H. Hammann: Untersuchungen zur Methodik der Aktivitätsbestimmung der Kreatinphosphokinase. *Klin. Wschr.* 39 (1961) 1269
18. Rotthauwe, H. W., M. Cequeiro: Die Haltbarkeit der Serum-Kreatinkinase. *Klin. Wschr.* 41 (1963) 876
19. Rotthauwe, H. W., S. Kowalewski: Bestimmung der aktivierten Kreatinphosphokinase. *Z. klin. Chem.* 5 (1967) 254
20. Rotthauwe, H. W., S. Kowalewski: Aktivierung und Alterung der Serum-Kreatinkinase. *Klin. Wschr.* 45 (1967) 177
21. Rudolph, N., R. T. Gross: Creatine-Phosphokinase activity in serum of newborn infants as an indicator of fetal trauma during birth. *Pediatrics* 38 (1966) 1039
22. Schmidt, E., F. W. Schmidt: Optimale Bedingungen zur Bestimmung der Transaminasen und der Kreatinphosphokinase im Serum und ihre Konsequenzen für die Diagnostik. *Z. analyt. Chem.* 243 (1968) 398
23. Sitzmann, F. C.: Untersuchungen über das Verhalten der Kreatinphosphokinase während der Neugeborenenperiode. *Z. Kinderheilk.* 96 (1966) 343
24. Stein, Ph., W. Lamprecht: Verbesserte Methode zur Messung der Kreatinphosphokinase-Aktivität in Gewebsextrakten und Serum. *Klin. Wschr.* 40 (1962) 177
25. Szasz, G., E. W. Busch, H. B. Farohs: Serum Creatinkinase. I. Methodische Erfahrungen und Normalwerte mit einem neuen handelsüblichen Test. *Dtsch. med. Wschr.* 95 (1970) 829
26. Szasz, G. R., W. Busch, H. B. Farohs: Serum-kreatinkinase, II. Ergebnisse bei Herzinfarkt und anderen kardiologischen Erkrankungen mit der aktivierten Rückwärtsreakt. *Dtsch. med. Wschr.* 96 (1971) 980
27. Vejjajva, A., G. M. Teasdale: Serum creatine kinase and physical exercise. *Brit. Med. J.* 1 (1965) 1653
28. Velez-Garcia, E., P. Hardy, M. Dioso, G. Perkoff: Cystein stimulated serum creatin phosphokinase: unexpected results. *J. Lab. clin. Med.* 68 (1966) 636
29. Wiesmann, U., J. P. Colombo, F. Adam, R. Richterich: Determination of cysteine activated creatine kinase in serum. *Enzymol. biol. clin.* 7 (1966) 266

L e b e n s l a u f

Am 26. September 1945 wurde ich als Tochter des Kaufmanns Sugeng Rahardja Djayaputra und seiner Ehefrau Setiawati, geborene Kwik in Semarang/Indonesien geboren.

Von 1951 bis 1957 besuchte ich die "Sekolah Rakjat" (Volksschule, darauf 3 Jahre die "Sekolah Menengah Pertama" (Mittelschule) und anschließend 3 Jahre die "Sekolah Menengah Atas" (Oberschule) in Semarang/Indonesien, die ich 1963 mit dem Reifezeugnis verließ .

Von Oktober 1963 bis Februar 1966 studierte ich Medizin an der Universität "Deponegoro" in Semarang/Indonesien. Dann bereitete ich mich auf das Studium der Medizin in Deutschland vor, das ich im Wintersemester 1966/67 an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen begann. Im Juli 1967 bestand ich das Vorphysikum und nach dem Wintersemester 1968/69 das Physikum. Die anschließende Studienzeit verbrachte ich bis zum Staatsexamen ohne Unterbrechung in Erlangen.

